

**Evaluation du niveau de sensibilité d'*Heliothis armigera* Hbn.,
déprédateur de la capsule du cotonnier, aux associations
cyperméthrine-chlorpyrifos et cyperméthrine-méthylparathion.
Etude des interactions possibles entre ces insecticides.**

R. Goebel* et P. Jacquemard**

* Entomologiste IRAT/ISRA, BP 240, Saint-Louis, Sénégal.

**Entomologiste IRCT/CIIRAD, BP 5035, 34032 Montpellier Cedex 1, France.

Résumé

Des associations cyperméthrine-chlorpyrifos et cyperméthrine-méthylparathion sont testées par application topique sur *H. armigera*, déprédateur du cotonnier. Ces associations sont étudiées à différents ratios de concentration afin de détecter d'éventuelles potentialisations (effets synergiques).

L'étude des interactions entre matières actives permet d'identifier différents cas d'action conjointe et une classification est faite selon un coefficient de cototoxicité. Parmi ces deux types de mélanges binaires, seule l'association cyperméthrine-méthylparathion montre une réelle potentialisation sur *H. armigera*.

MOTS CLES : *Heliothis armigera*, synergie, cyperméthrine, organo-phosphorés.

Introduction

Parmi les plantes tropicales, le cotonnier paie un lourd tribut au parasitisme et sa protection phytosanitaire est indispensable. Dans l'esprit d'une lutte chimique raisonnée, de nombreux tests en laboratoire ont permis d'évaluer le niveau de sensibilité des ravageurs de cultures aux insecticides. Nous nous sommes donc proposés dans un premier temps de déterminer la toxicité de quelques matières actives à l'égard d'*Heliothis armigera* Hbn., déprédateur du cotonnier.

Nous avons, dans un second temps, envisagé l'étude des interactions entre deux insecticides afin de mettre en évidence des phénomènes de potentialisation et d'identifier les cas d'actions conjointes, lors d'association binaire. L'intérêt de ces associations étant de réduire les doses d'insecticides et de diminuer, dans certains cas, le risque d'apparition de résistance.

Matériel et méthodes

La souche d'*Heliothis armigera*, utilisée pour les tests insecticides, provient de Bouaké (Côte d'Ivoire). Elle est élevée depuis 1977 sur milieu artificiel, en chambre climatisée au CIRAD (COUILLAUD et GIRET, 1980). Depuis cette date, la souche n'a jamais été exposée à des traitements insecticides.

Pour évaluer la toxicité des produits à l'égard de cette population d'insectes, on a administré à des lots de chenilles 4 à 8 doses croissantes de matière active diluée dans l'acétone sur un échantillon de cette population.

Le choix de ces doses a été fait à partir d'une recherche préliminaire visant à encadrer les 50 % de mortalité, avec des valeurs supérieures à 0 % et inférieures à 100 %. Pour chaque dose, 3 classes de poids sont constituées et un effectif de 15 larves par dose ou lot expérimental est retenu.

Le traitement insecticide des larves est effectué par application topique d'une solution acétonique de produit. Ces applications sont réalisées à l'aide d'un microapplicateur automatique ARNOLD agissant sur une seringue

calibrée (GRY, 1972). Les gouttes des solutions d'insecticides sont déposées sur la partie dorsale du thorax de chaque chenille, à raison de 1 µl pour 100 mg de poids vif.

Une fois les traitements réalisés, les boîtes de lots expérimentaux de larves sont entreposées dans les cellules d'élevage. Les comptages de la mortalité sont effectués à 24 h, 48 h et 72 h. Si l'on constate une mortalité naturelle dans le lot témoin, l'essai est recommencé. Le programme d'analyse statistique des DL 50 utilisé a été élaboré par le service Biométrie de l'IRCT, selon la méthode Probit/log-dose de FINNEY (1971).

Les tests ont porté sur des matières actives appartenant à 2 familles d'insecticides :

- pyréthrinoides : cyperméthrine
- organophosphorés : chlorpyrifos
méthylparathion

En ce qui concerne les mélanges binaires d'insecticide, 2 types d'associations ont été étudiées :

- cyperméthrine-chlorpyrifos
- cyperméthrine-méthylparathion.

Après des essais préliminaires, 2 ratios de concentration ont été retenus à partir de la DL 50 de chaque produit :

- 1:9 (10 % de pyréthrinoides + 90 % d'organophosphoré)
- 1:1,5 (40 % de pyréthrinoides + 60 % d'organophosphoré)

D'après KOZIOL (1982) et ROBERTSON (1984), les interactions entre 2 produits dans une association font apparaître plusieurs cas d'action conjointe basés sur la comparaison de la toxicité du mélange à la somme théorique des toxicités de chaque constituant. Il y a potentialisation (synergie) lorsque l'association présente une toxicité (DL 50) observée significativement plus forte que la DL 50 théorique. Il y a antagonisme pour toute association dont la toxicité (DL 50) observée est significativement moins forte que la DL 50 théorique.

Ces deux situations sont distinguées à partir d'un modèle d'indépendance de l'action (modèle de référence), en supposant qu'il n'existe aucune interaction entre les deux produits (BLISS, 1939; PLACKETT et HEWLETT, 1948 et 1952), mais que leurs modes d'action sont identiques : ainsi l'un est substituable à l'autre en proportion constante.

L'identification des interactions est purement pratique et ne s'appuie sur aucun support biochimique, ni mathématique : il s'agit simplement de mettre en évidence un effet de nature synergique ou non.

Pour cela 2 opérations sont nécessaires :

La première consiste à calculer la DL 50 théorique (le modèle d'action indépendante) à partir des DL 50 de chacun des produits (A et B) que l'on additionnera suivant leur proportion dans le mélange (M) (SUN et JOHNSON, 1960).

DL 50 théorique = DL 50 de A x % de A dans M + DL 50 de B x % de B dans M

La seconde opération est une estimation du coefficient de cototoxicité (SUN et JOHNSON, 1960 ; KOZIOL et WITKOWSKI, 1982) permettant une analyse plus fine des différentes situations :

Valeur DL 50 théorique
Coefficient de cototoxicité (c.c.) = —————
Valeur DL 50 observée

— un c.c. supérieur à 1 indique qu'il y a réellement une potentialisation ;

— un c.c. inférieur à 1 traduit un antagonisme ;

— un c.c. égal à 1 indique une action conjointe indépendante (le modèle suppose que les insecticides qui n'ont pas d'interaction ont un coefficient égal à 1).

Résultats et discussion

Les résultats chiffrés sont regroupés dans les tableaux 1 et 2. Le tracé des droites de régression dose-mortalité et les analyses statistiques des produits seuls et de leur association aux ratios 1:9 et 1:1,5 sont représentés dans les figures 1 et 2 et dans les tableaux 1 et 2.

Toxicité des produits seuls

H. armigera montre une grande sensibilité à la cyperméthrine qui est environ 10 fois plus toxique que le méthylparathion et 18 fois plus que le chlorpyrifos.

La toxicité relative de ces insecticides représentée par la valeur de DL 50 peut donc être classée dans l'ordre décroissant suivant :

cyperméthrine > méthylparathion > chlorpyrifos

Il est à noter la bonne performance du méthylparathion sur cette noctuelle. Des résultats similaires avec la cyperméthrine et le chlorpyrifos ont été obtenus par MIANZE (1985), dans les mêmes conditions de traitement et sur la même souche.

Toxicité des associations pyréthrinoides-organophosphorés

Association cyperméthrine-chlorpyrifos (tabl. 1)

Nous avons pu observer au cours des différents tests qu'*Heliothis armigera* présentait une certaine sensibilité à l'égard de cette association, quels que soient les ratios utilisés. Cependant, la potentialisation qui ressort avec le ratio 1:9 est plus marquée.

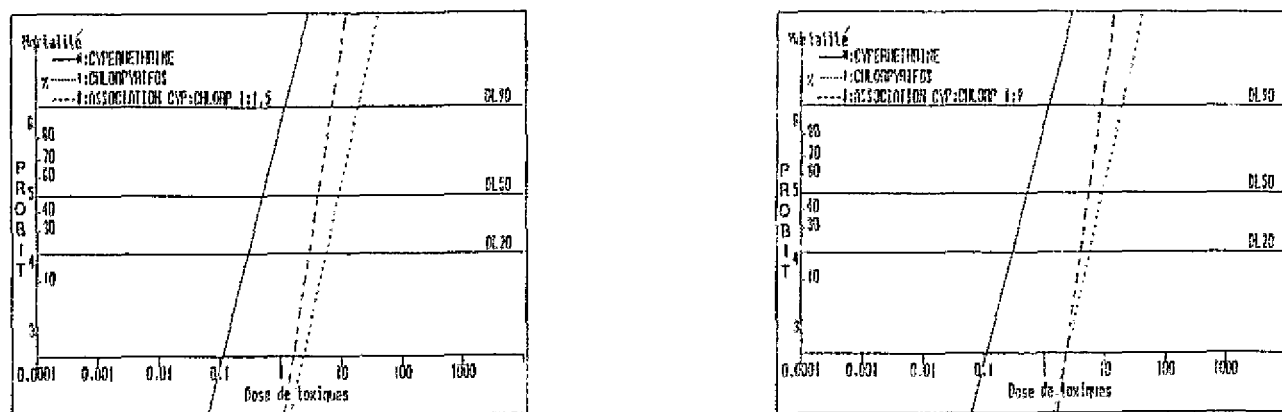


Figure 1

Toxicité de l'association cyperméthrine-chlorpyrifos purs (ratios 1:9 et 1:1.5) comparée à celle des produits seuls sur *H. armigera*.

Toxicity of pure cypermethrin-chlorpyrifos combinations (1:9 and 1:1.5) compared to that of the substances applied alone to *H. armigera*.

TABLEAU 1

Toxicité des associations cyperméthrine-chlorpyrifos purs sur *H. armigera*.

Toxicity of pure cypermethrin-chlorpyrifos combinations for *H. armigera*.

Mélange d'insecticide	Ratio	DL 50 (en µg/g de chenille)	Limites de confiance (à p=0,05)	Pente	Coef. cotox.*	Potentialisation
Cyperméthrine	1:0	0,52	0,42 - 0,64	3,52	-	
Chlorpyrifos	1:0	9,27	7,76 - 11,0	3,98	-	
Cyperméthrine-chlorpyrifos	1:9	5,50	4,88 - 6,22	6,26	1,52	++
Cyperméthrine-chlorpyrifos	1:1.5	4,20	3,71 - 4,75	5,64	1,37	+

* Coefficient de cototoxicité (c.c.) = DL 50 théorique / DL 50 observée
c.c. = 1 pas d'interaction (0)
c.c. > 1 potentialisation (++)
c.c. < 1 antagonisme (+)

* Cotoxicity coefficient (c.c.) = theoretical LD50 observed DL50
c.c. = 1: no interaction (0)
c.c. > 1: synergism (++)
c.c. < 1: antagonism (+)

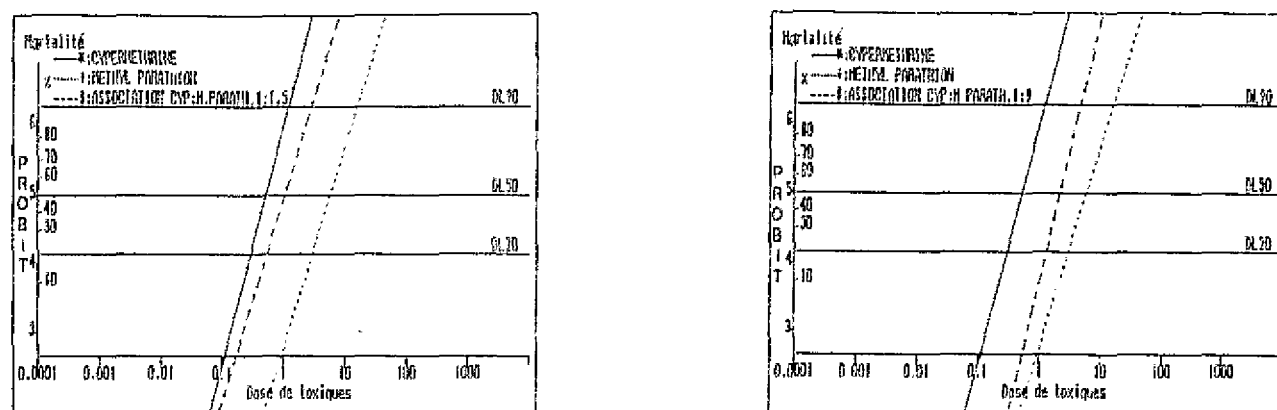


Figure 2

Toxicité de l'association cyperméthrine-méthylparathion purs (ratios 1:9 et 1:1.5) comparée à celle de produits seuls sur *H. armigera*.

Toxicity of combinations of pure cypermethrin and methylparathion (at ratios of 1:9 and 1:1.5) compared to the toxicity of the individual substances on *H. armigera*.

TABLEAU 2

Toxicité des associations cyperméthrine-méthylparathion purs sur *H. armigera*.

Toxicity of pure cypermethrin/methylparathion mixtures on *H. armigera*.

Mélange d'insecticide	Ratio	DL 50 (en µg/g de chenille)	Limites de confiance (à p=0,05)	Pente	Coef. cotox.	Potentialisation
Cyperméthrine	1:0	0,52	0,62 - 0,64	3,52	-	
Méthylparathion	1:0	5,75	4,34 - 7,61	2,96	-	
Cyperméthrine-méthylparathion	1:9	2,17	1,80 - 2,62	3,88	2,40	++
Cyperméthrine-méthylparathion	1:1.5	1,03	0,80 - 1,33	2,98	2,55	++

Des résultats similaires avaient été obtenus par KOZIOL et WITKOWSKI (1982) avec l'association perméthrine-chlorpyrifos sur *Heliothis zea* et *H. virescens*. Ils signalaient des cas de synergie. ROBERTSON et SMITH (1984) notaient une faible potentialisation avec la même association sur un lépidoptère Tortricidae (*Choristoneura occidentalis*).

Par ailleurs, nous avons pu constater, pour ces 2 ratios de concentration, une modification de l'allure générale des droites de régression par rapport à celle des produits seuls : les pentes sont en général plus élevées dans le cas des associations et surtout lorsqu'il s'agit d'atteindre 90 % d'insectes de la population.

Conclusion

Au cours de ces différents tests, nous avons constaté que l'expression unique de la valeur de DL 50, déterminée au laboratoire en application topique ne permet pas de quantifier correctement l'efficacité d'un insecticide ou d'une association d'insecticides. C'est pourquoi l'accent a été mis sur l'allure générale des droites de régression et sur le calcul d'un coefficient de cototoxicité au niveau de la DL 50, ces paramètres fournissant des informations plus précises sur l'activité des mélanges de produits.

Pour certains de ces mélanges les écarts entre DL 50 et DL 90 sont souvent très faibles (pente forte) comparés aux produits seuls, avec une potentialisation généralement plus marquée à la DL 90. C'est le cas de l'association

Association cyperméthrine-méthylparathion (tabl. 2).

Cette association a présenté une potentialisation très nette. Toutefois, contrairement à l'association cyperméthrine-méthylparathion c'est le ratio 1:1,5 qui montre une plus grande efficacité.

De fortes synergies avaient été obtenues par KOZIOL et WITKOWSKI (1982) pour le mélange perméthrine-méthylparathion avec une dominance du ratio 1:1,5.

Nous nous sommes également aperçus que la sensibilité d'*H. armigera* s'était accrue avec l'association au ratio 1:9 (valeur de la pente de l'association supérieure à celle de chaque produit simple).

cyperméthrine-méthylparathion qui se révèle être performante vis-à-vis d'*H. armigera*.

Concernant l'association cyperméthrine-chlorpyrifos, les résultats sont moins prononcés. On peut retenir, cependant, qu'une certaine potentialisation apparaît lorsque le mélange contient une petite quantité de cyperméthrine et une quantité plus importante de chlorpyrifos (toxicité moins forte).

L'explication de la potentialisation ou de l'antagonisme reste toutefois assez superficielle, car les situations d'interaction sont en général très complexes et difficiles à interpréter.

Références bibliographiques

- BLISS C.I., 1939. - The toxicity of poisons applied jointly. *Ann. Appl. Biol.*, 26, 585-615.
- COULLOUD R., GIRET M., 1980. - Multiplication d'*H. armigera* Hbn. (Lep. noctuidae) : améliorations possibles grâce à l'adoption d'une technique d'élevage en groupe de chenilles. *Cot. Fib. Trop.*, 35, 2, 217-224.
- FITNEY D.J., 1971. - «Probit analysis», 3ème édition. *Cambridge Univ. Press*, London, 333 p.
- GRY J., 1972. - Techniques d'essais insecticides par traitement individuel et détermination des DL 50. *INA-PG/Orsay*, France. Fasc. n° 2 et 3.
- KOZIOL F.S., WITKOWSKI J.F., 1982. - Synergism studies with binary mixtures of Permethrin plus Methylparathion, Chlorpyrifos and Malathion on European Cor Borer larvae. *J. Econ. Entomol.*, 75, 28-30.
- MIANZE T., 1985. - Rapport ingénieur agronomie tropicale. *CNEARC*, 52 p.
- PLACKETT R.L., HEWLETT P.S., 1948. - Statistical aspects of the independant joint action of poisons, particularly insecticides. I. The toxicity of a mixture of poisons. *Ann. Appl. Biol.*, 35, 347-358.
- PLACKETT R.L., HEWLETT P.S., 1952. - Quantal responses to mixtures of poisons. *J.R. Statist. Soc. B* 14, 141-154.
- ROBERTSON J.L., KIMBERLY C.S., 1984. - Joint action of Pyrethroids with organophosphorus and Carbamate insecticides applied to Western Spruce Budworm (Lepidoptera : Tortricidae). *J. Econ. Entomol.*, 77, 16-22.
- SUN Y.P., JOHNSON E.R., 1960. - Analysis of joint action of insecticides against House Flies. *Ibid.*, 53, 887-892.
- WADLEY F.M., 1945. - The evidence required to show synergistic action of insecticides and a short cut in analysis. *Agricultural research administration - Bur. Entomol. and Plant Q.* ET-223, 6 p.
- WADLEY F.M., 1949. - Short cut procedure for error estimate in laboratory studies of synergism in insecticides. *Ibid.*, ET 275, 5 p.

Evaluation of the sensitivity of the cotton boll pest *Heliothis armigera* Hbn. to cypermethrin-chlorpyrifos and cypermethrin-methylparathion mixtures. Study of possible interactions between these insecticides.

R. Goebel and P. Jacquemard

Summary

Cypermethrin-chlorpyrifos and cypermethrin-methylparathion mixtures were tested by topical application to the cotton pest *H. armigera*. Different concentration ratios were studied to detect possible synergistic effects.

Study of the interactions between active ingredients led to identification of combined effects; these were classified by cotoxicity coefficient. Only the cypermethrin-methylparathion mixtures showed true potentiation on *H. armigera*.

KEY WORDS : *Heliothis armigera*, synergism, cypermethrin, organophosphorus insecticides.

Introduction

Considerable cotton losses are caused by parasites and phytosanitary protection is essential. Numerous laboratory chemical control tests have evaluated pest sensitivity to insecticides. The present work was first to determine the toxicity of several active ingredients for *Heliothis armigera* Hbn., a cotton pest. The combined effect of two insect-

icides was then studied to identify synergism phenomena and to identify the joint action of combinations. The advantage of such combinations is that insecticide doses can be reduced and the risk of resistance is diminished in certain cases.

Material and methods

The *Heliothis armigera* strain used in the insecticide trials was from Bouaké (Côte d'Ivoire). It has been cultured since 1977 on artificial medium in an air-conditioned room at the CIRAD (COUILLOU and GIRET, 1980). The strain had not been subjected to insecticide treatment since that date.

The toxicity of insecticides for this insect population was evaluated by applying 4 to 8 increasing doses of active ingredient diluted in acetone to sample batches of larvae. The doses were chosen by preliminary research aimed at bracketing the 50% lethal dose with values greater than 0% and lower than 100%. Three weight categories were established for each dose and there were 15 larvae per dose or per experimental batch.

Insecticide was administered to the larvae by topical applications of acetone solutions of insecticide. An ARNOLD automatic micro-applicator was used operating a calibrated syringe (GRY, 1972). The drops of insecticide solutions (1 µl per 100 mg live weight) were placed on the dorsal part of the thorax of each larva.

The boxes of treated experimental batches of larvae were stored in the culture units. Death counts were carried out after 24 h, 48 h and 72 h. The trial was repeated if natural deaths occurred in the control batch. The LD 50 statistical analysis program was written by the IRCT Biometry Department using FINNEY's Probit/log-dose method.

Two groups of active ingredients were tested:

- pyrethroids: cypermethrin
- organophosphorus substances: chlorpyrifos and methylparathion.

Two types of combination of two insecticides were investigated:

- cypermethrin-chlorpyrifos
- cypermethrin-methylparathion.

Preliminary trials led to retaining two concentration ratios based on the LD50 of each substance:

- 1:9 (10% pyrethroid + 90% organophosphorus compound)
- 1:1.5 (40% pyrethroid + 60% organophosphorus compound).

According to KOZIOL (1982) and ROBERTSON (1984), interactions of a combination of 2 substances sometimes revealed joint effects shown by comparison of the toxicity of the mixture with the theoretical sum of the toxicity of each constituent. There is synergy when the observed toxicity (LD50) is significantly higher than the theoretical LD50. There is antagonism when the observed toxicity (LD50) is significantly smaller than the theoretical LD50.

These two situations are distinguished using a model of independent action (reference model), assuming that there is no interaction between the two products (BLISS, 1939; PLACKETT and HEWLETT, 1948 and 1952) but that their modes of action are identical. One product can therefore replace the other in a constant proportion.

Identification of the interactions was purely practical

with no biochemical or mathematical backing; the aim was simply to show a synergic effect or not.

Two operations were carried out. The theoretical LD50 was calculated (the model of independent action) from the LD50 values of each substance (A and B) according to their proportion in the mixture (M) (SUN and JOHNSON, 1960).

Theoretical LD50 = LD50 of A \times % of A in M + LD50 of B \times % of B in M.

The second operation was the estimating of the cotoxicity coefficient (SUN and JOHNSON, 1960; KOZIOL and WITKOWSKI, 1982) which enabled closer analysis of the different situations:

Cototoxicity coefficient (c.c.) = Theoretical LD50/Observed LD50.

- c.c. greater than 1 shows that there is potentiation
- c.c. lower than 1 indicates antagonism;
- c.c. of 1 indicates joint independent action (the model assumes that the insecticides with no interaction have a coefficient of 1).

Results and discussion

The results in figures are shown in Tables 1 and 2. The dose-deaths regression curves and the statistical analyses of the substances alone and mixed in ratios of 1:9 and 1:1.5 are shown in Figures 1 and 2 and Tables 1 and 2.

Individual toxicity

H. armigera displayed great sensitivity to cypermethrin. The latter was approximately 10 times as toxic as methylparathion and 13 times as toxic as chlorpyrifos. The relative toxicity of these insecticides as represented by LD50 is thus as follows in descending order:

cypermethrin > methylparathion > chlorpyrifos.

The good performance of methylparathion on this insect should be noted. MIANZE (1985) obtained similar results with cypermethrin and chlorpyrifos under the same conditions of treatment and on the same strain.

Toxicity of pyrethroid-organophosphorus combinations

Cypermethrin-chlorpyrifos (Table 1)

Heliothis armigera displayed a certain sensitivity to this combination during the various tests, whatever the ratio. However, synergism was more marked at 1:9.

Similar results were obtained by KOZIOL and WITKOWSKI (1982) with a combination of permethrin and chlorpyrifos on *Heliothis zea* and *H. virescens*. Cases of synergy were reported. ROBERTSON and SMITH (1984) reported weak potentiation of the same combination on a lepidoptera (Totricidae, *Choristoneura occidentalis*).

The two concentration ratios studied changed the general shape of the regression curves in comparison with those of the substances applied singly. The slopes were generally steeper for the combinations, especially when 90% of the insects in the population were affected.

Combination of cypermethrin and methylparathion (Table 2)

This combination displayed distinct potentiation. However, unlike the cypermethrin-methylparathion combination, the most effective ratio was 1:1.5. Strong synergism had been observed by KOZIOL and WITKOWSKI (1982) with the permethrin-methylparathion mixture, especially at a ratio of 1:1.5.

It was also observed in the present work that the sensitivity of *H. armigera* increased with the 1:9 combination (slope of the combination greater than that of each substance alone).

Conclusion

It was seen during these tests that the LD50 alone determined in the laboratory after topical application is not

sufficient for good quantification of the effectiveness of single or combined insecticides. For this reason, stress was

laid on the general shape of the regression curves and on calculation of an LD50 cotoxicity coefficient, as these parameters give more accurate information on the effects of mixtures of substances.

The differences between LD50 and LD90 were small for some mixtures (steep slope) in comparison with those of single substances, and the potentiation was generally more marked at LD 90. This is the case for the cypermethrin-methylparathion combination which was found to be effective on *H. armigera*.

The results for cypermethrin-chlorpyrifos were not as clear. It can be noted, however, that there was a certain synergism when the mixture contained a small quantity of cypermethrin and a larger amount of chlorpyrifos (weaker toxicity).

Explanation of potentiation or antagonism nevertheless remains fairly superficial since interaction situations are generally extremely complex and difficult to interpret.

Evaluación del nivel de sensibilidad d'*Heliothis armigera* Hbn., plaga de la cápsula del algodónero a las asociaciones cipermetrina-chlorpirifos y cipermetrina-méthylparatión. Estudio de las interacciones posibles entre insecticidas

R. Goebel y P. Jacquemard

Resumen

Se testan asociaciones cipermetrina-chlorpirifos y cipermetrina-méthylparatión por aplicación tópica sobre *H. armigera*, plaga del algodónero. Se estudian estas asociaciones a diferentes ratios de concentración con el fin de descubrir potencializaciones eventuales (efectos sinérgicos).

El estudio de las interacciones entre materias activas permite identificar diferentes casos de acción conjunta y se hace una clasificación según un coeficiente de cotoxicidad. Entre estos dos tipos de mezclas binarias, solo la asociación cipermetrina-méthylparatión enseña una verdadera potenciación sobre *H. armigera*.

PALABRAS CLAVE : *Heliothis armigera*, sinergia, cipermetrina, organofosforado.